

Г.О. Каминская, Р.Ю. Абдуллаев, О.Г. Комиссарова

Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН, Москва, Российская Федерация

Особенности метаболической активности сосудистого эндотелия у больных туберкулезом легких

Было обследовано 81 больной активным туберкулезом легких. Морфофункциональный статус эндотелия оценивали по содержанию в крови стабильных метаболитов оксида азота, эндотелина-1 и антигена фактора фон Виллебранда. В качестве характерного явления установлен рост концентрации эндотелина-1, находившийся в прямой зависимости от степени выраженности синдрома системного воспалительного ответа. При хронических и распространенных процессах отмечено закономерное снижение содержания оксида азота, не связанное с синдромом системного воспалительного ответа и являвшееся следствием специфической туберкулезной интоксикации. Концентрация антигена фактора фон Виллебранда была снижена у пациентов с небольшой давностью и распространенностью процесса, но она прогрессивно увеличивалась параллельно нарастанию выраженности синдрома системного воспалительного ответа. Установленная триада изменений (разнонаправленные сдвиги концентрации эндотелина-1 и оксида азота при постепенном нарастании содержания антигена фактора фон Виллебранда) манифестировала в синдром метаболической дисфункции эндотелия и создавала предпосылки к нарушениям микроциркуляции. **Ключевые слова:** туберкулез, эндотелий, оксид азота, эндотелин-1, фактор фон Виллебранда.

29

Введение

Сосудистый эндотелий является самостоятельной функциональной системой, играющей ключевую роль в сохранении жидкого состояния крови и обеспечении процессов микроциркуляции. Эта роль определяется как антикоагулянтными свойствами самой плазменной поверхности эндотелия, так и его способностью синтезировать, секретировать и экспонировать ряд медиаторов, оказывающих влияние на процессы адгезии и агрегации тромбоцитов, плазменную систему гемостаза, тонус и проницаемость сосудов [1, 2]. Этот аспект сохранения гомеостаза чрезвычайно важен для больных туберкулезом легких, поскольку биохимическими методами у подавляющего числа пациентов выявляют в разной степени выраженные признаки латентно протекающего внутрисосудистого свертывания крови [3], а при морфологическом исследовании резецированных и аутопсийных легких обнаруживают явления васкулитов с поврежде-

ниями эндотелиоцитов и наличием микротромбообразования [4, 5]. Все эти соображения послужили основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования: изучить возможные механизмы участия эндотелия в нарушениях микроциркуляции у больных туберкулезом легких.

Пациенты и методы

Участники исследования

Было обследовано 81 больной активным туберкулезом легких (46 мужчин и 35 женщин в возрасте от 18 до 68 лет). У 50 из них имел место впервые выявленный туберкулез, у 7 — рецидив и у 24 — хронические формы заболевания. Доминирующими формами были инфильтративный ($n=47$; 58%) и фиброзно-кавернозный ($n=16$; 19,8%) туберкулез. Распад легочной ткани выявили у 68 (84%), бактериовыделение — у 59 (72,8%) паци-

G.O. Kaminskaya, R.Yu. Abdullaev, O.G. Komissarova

Central TB Research Institute of RAMS, Moscow, Russian Federation

Features of Metabolic Activity of Vascular Endothelium in Patients with Pulmonary Tuberculosis

81 patients with active pulmonary tuberculosis were investigated. The morpho-functional status of vascular endothelium was evaluated by plasma levels of stable metabolites of nitric oxide, endothelin-1 and von Willebrand factor antigen. Typical increase of endothelin-1 in positive correlation with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) expression was established. Nitric oxide level decreased in patients with chronic and severe course of disease. Decrease of nitric oxide level was not associated with SIRS but was consequence of specific intoxication. von Willebrand factor antigen decreased in patients with recent and limited spread of tissue damage but increased progressively with intensity of SIRS. This complex of changes (contrast shifts of nitric oxide and endothelin-1 and von Willebrand factor antigen increase) manifested in endothelium metabolic dysfunction syndrome and developed pre-conditions for microcirculation disturbances.

Key words: tuberculosis, endothelium, nitric oxide, endothelin-1, von Willebrand factor.

ентов. Среди бактериовыделителей в 62,1% случаев была обнаружена множественная лекарственная устойчивость возбудителя и в 27,2% — широкая лекарственная устойчивость.

Методы исследования

Оценку метаболической активности эндотелия проводили по содержанию в плазме крови оксида азота (NO), эндотелина-1 (Э-1) и антигена фактора фон Виллебранда (ФВ), поскольку именно эндотелий является их главным источником в циркуляции. NO определяли по суммарному содержанию его стабильных метаболитов (нитритов и нитратов) с реактивом Griess [6] после предварительного восстановления нитратов до нитритов с помощью кадмиевого редуктора, импрегнированного медью. Содержание Э-1 и ФВ измеряли методом иммуноферментного анализа с наборами «Biomedica» (Австрия) и «Technoclone» (Австрия), соответственно, на планшетном фотометре «Multiskan» (Финляндия). Исследования проводили в течение первых 3–4 дней после поступления больных в клинику.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ Excel XP. Для каждой группы вычисляли среднее арифметическое (М) и ошибку среднего (m). Проверку гипотезы о равенстве средних величин при их нормальном распределении проводили, используя t-критерий Стьюдента. Различия считались статистически достоверными при значении $p < 0,05$. Оценку взаимосвязей изучаемых показателей проводили путем вычисления коэффициента корреляции Спирмена, величину которого считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 1. Наиболее существенным сдвигом оказалось достоверное и значительное увеличение содержания Э-1. Другие показатели в среднем от нормы не отличались, но амплитуда их индивидуальных значений была расширена. Реально показатели Э-1 превышали верхнюю границу нормы у 46,9%, т.е. практически у 1/2 пациентов. Изменения концентрации NO имели принципиально противоположную направленность: показатели за пределами нижнего интервала нормы были установлены у 25,9%, т.е. у 1/4 больных. Чрезвычайно широкий диапазон физиологических значений показателя ФВ (50–150%) нивелировал возможные сдвиги, однако у 2/3 обследованных (64,2%) значения ФВ располагались ниже среднего показателя нормы, т.е. в ее нижнем диапазоне.

Вместе с тем у 7,4% обследуемых уровень ФВ превышал верхнюю границу нормы.

Была проанализирована взаимосвязь обнаруженных изменений с длительностью заболевания. Показатели пациентов с впервые выявленным туберкулезом и с рецидивами практически совпадали. При сопоставлении результатов исследования этой объединенной группы больных и пациентов с хроническим течением болезни выяснилось, что, хотя тенденция к снижению NO имела место у всех пациентов, достоверный характер она приобретала только у больных с хроническими формами ($48,2 \pm 1,3$ мкМ при норме $52,2 \pm 1,5$ мкМ; $p < 0,05$). Содержание Э-1 было повышено у всех больных, достоверная разница между группами отсутствовала, но отчетливо просматривалась тенденция: у больных с впервые выявленным заболеванием показатели Э-1 составили $1,95 \pm 0,36$ фмоль/мл, у хронически болеющих — $2,76 \pm 0,79$ фмоль/мл; в обоих случаях по отношению к норме $p < 0,01$. Показатели ФВ в обеих группах были идентичны и не отличались от нормы.

При анализе по различным формам туберкулеза (табл. 2) было установлено, что при малых формах заболевания (очаговый туберкулез, туберкулема) уровень NO сохранялся в нормальных пределах, при активных процессах с выраженным воспалительным компонентом, но относительно ограниченных (инфильтративный, кавернозный туберкулез) намечалась тенденция к снижению NO, а при распространенных и генерализованных процессах острого течения (диссеминированный, фиброзно-кавернозный туберкулез) его содержание достоверно снижалось.

Изменения концентрации Э-1 при разных вариантах течения туберкулеза были не столь однозначны. При малых формах туберкулеза колебания были несоизмерны (возможно, вследствие малочисленности групп наблюдения). При свежих инфильтративных процессах наблюдался резкий рост уровня Э-1. Максимальных значений он достигал при фиброзно-кавернозном туберкулезе. Однако при диссеминированных процессах, обычно имеющих гематогенное распространение, показатель Э-1 оказался ниже, чем в предыдущих группах, а при казеозной пневмонии, знаменующей собой полный срыв защитных сил организма, падал ниже среднего показателя нормы. Создалось четкое впечатление, что стимуляция эндотелиального синтеза Э-1 является закономерным, но количественно лимитированным ответом на развитие туберкулезного воспаления. Мобилизация Э-1 имеет естественный предел, превышение которого ведет к истощению синтетической способности эндотелия по отношению к данному медиатору.

ФВ был достоверно снижен при свежих и ограниченных процессах, достоверно (но в пределах нормы)

Таблица 1. Содержание продуктов секреции сосудистого эндотелия в плазме крови больных активным туберкулезом легких

Показатели и единицы измерения	Сравниваемые группы	
	Здоровые	Больные активным туберкулезом легких
$\Sigma \text{NO}_2 + \text{NO}_3$, мкМ	$52,2 \pm 1,5$	$49,1 \pm 0,87$
Амплитуда	44,8–61,5	30,0–64,6
Эндотелин-1, фмоль/мл	$0,5 \pm 0,04$	$2,18 - 0,33^*$
Амплитуда	0,1–1,0	0,4–15,4
Фактор Виллебранда (антиген), %	$100,0 \pm 5,0$	$92,3 \pm 3,4$
Амплитуда	50–150	20,0–180,0

Примечание. * — различия достоверны по сравнению с нормальным значением. Данные представлены в виде «средняя \pm ошибка средней» (М \pm m) и амплитуды абсолютных величин.

Таблица 2. Показатели метаболической активности эндотелия у больных с различными формами туберкулеза легких

Показатели и единицы измерения	Нормальное значение	Больные с разными формами туберкулеза легких						
		Очаговый туберкулез, n=2	Инфильтративный туберкулез, n=47	Туберкулема, n=3	Диссеминированный туберкулез, n=5	Кавернозный туберкулез, n=6	Фиброзно-кавернозный туберкулез, n=16	Казеозная пневмония, n=2
		1	2	3	4	5	6	7
$\Sigma NO_2 + NO_3$, мкМ	52,2±1,5	55,2±1,8	49,7±1,1 $p_{1-2} < 0,01$	58,6±3,1	40,5±3,0* $p_{1,2,3-4} < 0,01$	49,5±1,5 $p_{3,4-5} < 0,01$	47,8±1,0* $p_{1,3,4-6} < 0,05$	45,8±3,5 $p_{1,3-7} < 0,01$
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,5±0,04	3,35±2,0	1,9±0,3*	3,5±2,8	1,3±0,4*	1,1±0,4	3,6±1,1* $p_{5-6} < 0,05$	0,37±0,07 $p_{2,4,6-7} < 0,01$
Фактор Виллебранда, %	100,0±5,0	90,0±31,0	76,6±3,8*	74,3±8,7*	86,8±8,6	78,5±7,6*	100,7±8,5 $p_{2,3,5-6} < 0,01$	150,0±6,0* $p_{1,3,4,5,6-4} < 0,01$

Примечание. * — различия достоверны по сравнению с нормальным значением. Данные представлены в виде «средняя ± ошибка средней» (M ± m).

Таблица 3. Взаимосвязь показателей метаболической активности эндотелия с фактом наличия и массивностью бактериовыделения

Показатели и единицы измерения	Здоровые	Сравниваемые группы			
		Больные туберкулезом легких			
		МБТ-, n=22	МБТ+, скудное, n=18	МБТ+, умеренное, n=14	МБТ+, обильное, n=27
		1	2	3	4
$\Sigma NO_2 + NO_3$, мкМ	52,2±1,5	53,1±1,3	50,5±2,0	48,7±1,3 $p_{1-3} < 0,05$	44,4±3,8* $p_{1-4} < 0,02$
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,5±0,04	1,43±0,37*	1,69±0,4*	2,67±0,9*	2,91±0,8*
Фактор Виллебранда, %	100,0±5,0	89,6±5,77	88,7±7,0	94,6±8,9	99,0±6,1

Примечание. * — различия достоверны по сравнению с нормальным значением. Данные представлены в виде «средняя ± ошибка средней» (M ± m). МБТ — микобактерии туберкулеза.

возрастал при фиброзно-кавернозном туберкулезе и превышал ее при казеозной пневмонии.

Изменения метаболической функции эндотелия демонстрировали отчетливую связь с размерами микобактериальной популяции в организме пациентов. Взяв за критерий ее оценки наличие и массивность бактериовыделения, мы обнаружили, что по мере ее нарастания уровень метаболитов NO в крови неуклонно снижался, Э-1 увеличивался, а ФВ изменялся в пределах нормальных значений, имея, тем не менее, тенденцию к поступательному росту (табл. 3).

В показателях метаболической функции эндотелия была зафиксирована взаимосвязь с наличием и характером лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза у обследованных больных. Уровень метаболитов NO укладывался в пределы нормы у пациентов с сохраненной лекарственной чувствительностью микобактерий туберкулеза, но был достоверно снижен при наличии множественной и широкой лекарственной устойчивости ($48,0 \pm 1,3$ и $46,8 \pm 2,3$ мкМ, соответственно; $p < 0,05$). При исследовании содержания ФВ обнаружили противоположную зависимость: будучи достоверно сниженным у пациентов с сохраненной лекарственной чувствительностью микобактерий туберкулеза ($66,4 \pm 6,0\%$; $p < 0,01$) и последовательно нарастая в трех других группах (полирезистентность, множественная и широкая лекарственная устойчивость), оно достигло у пациентов с широкой лекарственной устойчивостью величины $106,4 \pm 12,7\%$. Изменения Э-1 повторяли закономерности, отмеченные при анализе по формам заболевания: Э-1 был достоверно повышен при сохранении лекарственной чувствительности и полирезистентности микобактерий туберкулеза ($2,27 \pm 0,8$ и $2,61 \pm 0,5$ фмоль/мл, соответственно; $p < 0,01$)

и снижался у пациентов с широкой лекарственной устойчивостью ($1,44 \pm 0,5$ фмоль/мл), т.е. у клинически наиболее тяжелой группы больных. По-видимому, во влиянии на метаболические функции эндотелия существенным был не сам факт наличия и характера лекарственной устойчивости, а ее взаимосвязь с морфологической и клинической тяжестью процесса.

При корреляционном анализе не было установлено связи уровня метаболитов NO ни с показателями общего анализа крови, ни с биохимическими маркерами синдрома системного воспалительного ответа, хотя он отчетливо снижался по мере усугубления степени тяжести заболевания, оцениваемой по любым клиническим параметрам (длительность процесса, его распространенность, наличие и массивность бактериовыделения, наличие и нарастание лекарственной устойчивости). Очевидно, что снижение содержания NO не входило в симптомокомплекс синдрома системного воспалительного ответа, неспецифического по своей природе, а являлось следствием прямого подавляющего эффекта туберкулотоксина на механизм образования NO сосудистым эндотелием. Ранее у больных туберкулезом легких мы изучали интенсивность синтеза NO в фагоцитирующих клетках крови, в которых NO принадлежит бактерицидная функция по отношению к микобактериям туберкулеза. Оказалось, что базальный и стимулированный синтез NO в фагоцитах крови у этих пациентов был повышен, но не влиял на уровень NO в плазме крови [7], т.е. плазменное содержание NO определялось исключительно интенсивностью его синтеза в эндотелии. Следовательно, снижение содержания у больных туберкулезом легких с неблагоприятным течением процесса являлось прямым отражением метаболической дисфункции эндотелия.

В отличие от NO, повышение концентрации Э-1 в плазме крови, достаточно закономерное у больных туберкулезом легких, находилось в прямой взаимосвязи с выраженностью синдрома системного воспалительного ответа, на что указывало наличие прямых связей между Э-1 и такими его маркерами как С-реактивный белок ($r=0,38$) и α_1 -антитрипсин ($r=0,243$). Эти данные позволяют рассматривать возрастание уровня Э-1 в качестве компонента синдрома системного воспалительного ответа. Это возрастание может оказаться очень значительным (по нашим данным, до 15-кратного увеличения), однако в итоге приводит к истощению данной метаболической функции эндотелия, что и наблюдали у наиболее тяжелых категорий больных (с казеозной пневмонией, широкой лекарственной устойчивостью).

Между показателями NO и Э-1 была установлена прямая зависимость ($r=0,221$), на первый взгляд, трудно-объяснимая, принимая во внимание противоположный характер их сдвигов при туберкулезе легких. Объяснение, по всей видимости, состоит в том, что нарастание синтеза Э-1 определяется преимущественно выраженностью синдрома системного воспалительного ответа, тогда как новообразование NO находится под влиянием двух конкурирующих воздействий. С одной стороны, специфическая туберкулезная интоксикация подавляет его (по-видимому, угнетая активность эндотелиальной NO-синтазы), с другой — одним из эффектов возросшего содержания Э-1 становится стимуляция синтеза NO [8], что обеспечивает механизм паракринной регуляции сосудистого тонуса. При малых формах туберкулеза и ограниченных процессах гиперпродукция Э-1 компенсировала угнетающее действие туберкулезной интоксикации на синтез NO, и уровень последнего удерживался в пределах нормы, а у 4,9% больных даже превышал его. По мере повышения степени тяжести процесса превалировать начинал инфекционный фактор, и синтез NO эндотелием снижался, манифестируя наступление состояния дисфункции эндотелия.

Показатели ФВ не обнаруживали взаимосвязи с NO и Э-1, но прямо коррелировали со всеми маркерами синдрома системного воспалительного ответа (С-реактивным белком, сывороточным амилоидным белком А, α_1 -антитрипсином, СОЭ и лейкоцитозом; $r=0,39; 0,21; 0,249; 0,53$ и $0,334$, соответственно). Вместе с тем, как уже упоминалось выше, у 2/3 пациентов показатели ФВ располагались в нижнем диапазоне нормы и лишь у 7,4% больных превышали ее. Очевидно, уровень ФВ в циркуляции, как и в случае с NO, находился под влиянием двух факторов. Тенденция к закономерному снижению ФВ располагалась в русле эндогенных компенсаторных реакций, возникающих у больных туберкулезом легких с самого начала как ответ на активацию тромбоцитарного и плазменного гемостаза при инфекционном стрессе и формировании тканевых повреждений. Однако в комплекс реакций, отвечающих на стимуляцию синдрома системного воспалительного ответа, входила интенсифи-

кация синтеза ФВ, и по мере нарастания явлений системного воспаления физиологический контроль в системе гемостаза постепенно снижался. Увеличение интенсивности синтеза и высвобождения ФВ становилось самостоятельным фактором усугубления гиперкоагуляционного сдвига и интенсификации латентного внутрисосудистого свертывания крови, что характерно для неблагоприятно протекающего туберкулеза легких [3]. Выход показателя ФВ за пределы верхней границы нормы, чему обычно сопутствует повреждение и нарушение антикоагулянтных свойств плазменной поверхности эндотелия [9–11], стал маркером его морфофункциональных изменений.

Заключение

У больных туберкулезом легких возникают морфофункциональные изменения сосудистого эндотелия, выраженность и патофизиологическое значение которых зависят от особенностей течения процесса. Ранней реакцией эндотелия при развитии туберкулезного процесса в легких является интенсификация синтеза Э-1, который стимулирует и тем самым поддерживает на физиологическом уровне образование NO, подверженное угнетающему воздействию специфической интоксикации. Одновременно снижается эндотелиальный синтез ФВ как реакция эндогенной компенсации при возникновении гиперкоагуляционного сдвига в плазменной системе гемостаза в условиях инфекционного стресса и системного воспаления. В результате всех этих процессов у больных туберкулезом легких малой и ограниченной протяженности и при небольшой давности заболевания метаболическая функция эндотелия в целом остается сбалансированной, обеспечивая оптимальный тонус и проницаемость микрососудов и предотвращая развитие внутрисосудистого свертывания крови. При повышении степени тяжести процесса, увеличении его распространенности и нарастании в организме размеров микобактериальной популяции процессы паракринной регуляции в эндотелии нарушаются. Избыточный рост содержания Э-1 перестает компенсировать угнетение синтеза NO, уровень которого падает, в результате чего возникает дисбаланс, создающий предпосылки к развитию периферической вазоконстрикции. Мощная стимуляция провоспалительными факторами нарушает баланс внутри системы гемостаза и стимулирует усиленное новообразование ФВ, высвобождение которого в циркуляцию всегда сочетается с нарушением целостности плазменной поверхности эндотелия. В результате возникает синдром метаболической дисфункции эндотелия, который в сочетании с нарушением антикоагулянтных свойств внутренней поверхности сосудистой стенки создает предпосылки к микротромбообразованию, внутрисосудистому свертыванию крови и нарушению микроциркуляции как в зоне поражения, так и во всех жизненно важных органах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пушкарева Т.А., Корякина Л.Б., Рунович А.А., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И. Критерии оценки дисфункции эндотелия и пути ее коррекции. *Клин. лаб. диагн.* 2008; 5: 3–7.
2. Титов В.Н. Биохимические маркеры эндотелия и его роль в единении разных пулов межклеточной среды и пула внутрисосудистой жидкости. *Клин. лаб. диагн.* 2007; 4: 6–15.
3. Каминская Г.О., Мартынова Е.В., Серебряная Б.А., Абдуллаев Р.Ю., Комисарова О.Г. Участие системы гемостаза в формировании синдрома системного воспалительного ответа у больных туберкулезом легких. *Туб. и бол. легких.* 2011; 2: 52–58.
4. Суркова Л.К., Дюсьмикеева М.И. Остропрогрессирующий туберкулез легких: морфологические и бактериологические особенности. *Пробл. туб.* 2003; 3: 33–35.
5. Ерохин В.В., Лепеха Л.Н., Жилин Ю.Н., Карпина Н.Л. Морфологические признаки острого повреждения легких

- у больных казеозной пневмонией. *Пробл. туб. и бол. легких*. 2006; 10: 43–47.
6. Ding A.H., Nathan C.F., Stuehr D.J. Release of nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J. Immunol.* 1988; 141: 2407–2408.
 7. Абдуллаев Р.Ю., Каминская Г.О., Комиссарова О.Г., Глотова Б.В. Сывороточный уровень оксида азота в оценке системного воспаления у больных с лекарственно-устойчивым туберкулезом легких. *Пробл. туб. и бол. легких*. 2009; 5: 40–43.
 8. Botting R.M., Vane J.R. Endothelins: potent realisers of prostacyclin and EDRF. *Pol. J. Pharmacol.* 1990; 42: 203–218.
 9. Ochoa C.D., Wu S., Stevens T. New developments in lung endothelial heterogeneity von Willebrand factor, P-selectin and the Weibel-Palade body. *Semin. Thromb. Hemostat.* 2012; 36 (3): 301–308.
 10. Paulus P., Jennewien S., Zaharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers*. 2011; 16 (1): 11–21
 11. Starke R.D., Ferraro F., Paschalaki K., Dryden N.H., McKinnon T.A., Sutton R.E., Payne E.M., Haskard D.O., Hughes A.D., Cutler D.F., Laffan M.A., Randil A.M. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood*. 2011; 117 (3): 1071–1080.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Каминская Галина Ошеровна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела патанатомии и биохимии ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН

Адрес: 107564, Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел.: (499) 748-30-23

E-mail: rizalla@mail.ru

Абдуллаев Ризван Юсифович, профессор, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией биохимии ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН

Адрес: 107564, Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел.: (499) 748-30-23

E-mail: rizalla@mail.ru

Комиссарова Оксана Геннадьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела фтизиатрии ФГБУ «Центральный НИИ туберкулеза» РАМН

Адрес: 107564, Москва, Яузская аллея, д. 2

Тел.: (499) 785-90-71

E-mail: okriz@rambler.ru